

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MICORRIZAS VESÍCULO
ARBUSCULARES (MVA) EN EL CULTIVO DEL MAÍZ (*Zea mays* L.)
ALTERNATIVO Y CONVENCIONAL.**

P O R

FRANKLIN ALFREDO ARREOLA CRUZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO
DE:**

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO DEL 2010

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MICORRIZAS VESÍCULO
ARBUSCULARES (MVA) EN EL CULTIVO DEL MAÍZ (*Zea mays* L.)
ALTERNATIVO Y CONVENCIONAL.

P O R

FRANKLIN ALFREDO ARREOLA CRUZ

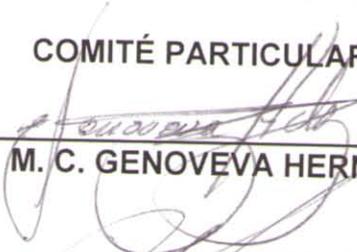
TESIS

QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORES,
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

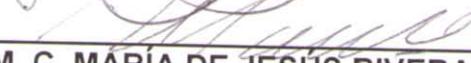
INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

COMITÉ PARTICULAR

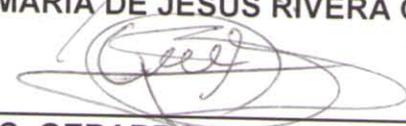
Asesor
principal:


M. C. GENOVEVA HERNÁNDEZ ZAMUDIO

Asesor :

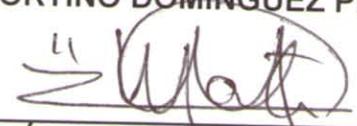

M. C. MARÍA DE JESÚS RIVERA GONZÁLEZ

Asesor :


M. C. GERARDO ZAPATA SIFUENTES

Asesor:


M. C. FORTINO DOMÍNGUEZ PÉREZ


M. E. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO
COORDINADOR DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México

Junio del 2010

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE MICORRIZAS VESÍCULO
ARBUSCULARES (MVA) EN EL CULTIVO DEL MAÍZ (*Zea mays* L.)
ALTERNATIVO Y CONVENCIONAL.

P O R

FRANKLIN ALFREDO ARREOLA CRUZ

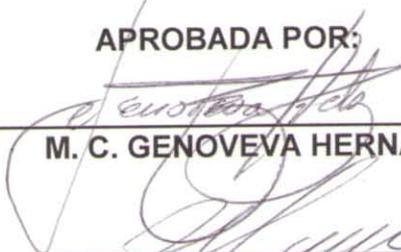
TESIS

QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR,
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

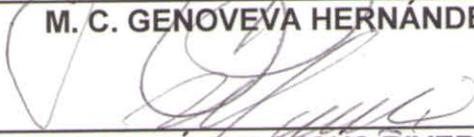
INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

APROBADA POR:

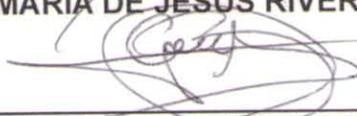
PRESIDENTE:


M. C. GENOVEVA HERNÁNDEZ ZAMUDIO

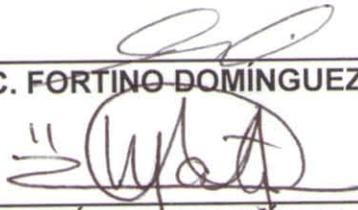
VOCAL:


M. C. MARÍA DE JESÚS RIVERA GONZÁLEZ

VOCAL:


M. C. GERARDO ZAPATA SIFUENTES

VOCAL:


M. E. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO
COORDINADOR DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México

Junio del 2010

AGRADECIMIENTOS

A DIOS.

Te doy gracias Señor, por darme la oportunidad de vivir, de sentir los buenos y los malos momentos de la vida, esos momentos me hicieron fuerte para seguir adelante, te doy gracias Señor, por darme una familia tan cariñosa, una familia humilde, por brindarme amigos y por hacer de mi una persona sencilla, quien te agradecerá por siempre que le dejes cumplir sus metas y objetivos, gracias Dios.

A mis padres y hermano por sus buenos consejos y porque siempre han estado conmigo en los buenos y malos momentos.

A mi Universidad “ALMA TERRA MATER” , por la oportunidad que me brindo en formarme como un profesionista y así ser uno más de tus hijos que pondrán tu nombre en lo alto.

A gradezco a la M. C. Genoveva Hernández Zamudio por su plena confianza en mí, para que este proyecto saliera adelante, mi más sincero respeto y cariño.

A la M. C. María de Jesús Rivera González por su amistad, apoyo y participación en este trabajo.

Al M. C. Gerardo Zapata Sifuentes, por brindarme su amistad, conocimiento y por su valiosa participación en este proyecto.

Al Biol. Héctor Montaña Rodríguez por su aceptación y participación en el proyecto.

Al M.C. Fortino por su conocimiento y apoyo para la culminación de este trabajo.

Al Dr. Jesús Vázquez Arroyo, por su apoyo para la culminación de este proyecto

A la Biol. María Mercedes. Ya que fue la que me ayudó para que este proyecto saliera adelante, gracias bióloga Meche estoy agradecido con usted, mi más sincero respeto y cariño.

A la Ing. Cintia Dinora Ruedas por su apoyo y participación en este trabajo.

A mis compañeros de generación y amigos (hijin, ojon, niño, tigre) por su amistad brindada, por los buenos y malos momentos que vivimos durante nuestra estancia en nuestra "ALMA TERRA MATER".

A todos los maestros. Que de alguna manera contribuyeron en mi formación académica, con su buena experiencia y conocimientos facilitaron mi culminación como profesionista. A todos, mil gracias.

A mi nenita emoxa.

Tú eres la mujer que me da el aliento
Tú eres la mujer que me llena al cien por ciento
Tú eres la mujer que hace mi cuerpo enloquecer

He vuelto a creer en el amor
me has traído un nuevo amanecer

Por eso quiero vivir siempre a tu lado
me has dejado el corazón encarcelado
cada vez que te veo me dejas hipnotizado
bendito sea el día en que lo nuestro a comenzado

DEDICATORIAS

A MIS PADRES.

Alfredo Arreola Ruiz

Y

María Isabel Cruz González

Con cariño, admiración y respeto les agradezco que me hayan dado la vida, es por ello que les agradezco. Estoy muy agradecido con ustedes padres por darme la oportunidad de terminar mis estudios universitarios, por haberme educado tan bien y llevarme por el buen camino. Padres los amo.

A MI HERMANITO.

Amaury Arreola Cruz

Por ser una persona importante en mi vida, en la que puedo confiar, gracias carnal, por todo el apoyo brindado.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Página |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| AGRADECIMIENTOS | iv |
| DEDICATORIAS..... | vii |
| ÍNDICE DE CUADROS | x |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xi |
| ÍNDICE DE APÉNDICE..... | xii |
| RESUMEN | xii |
| SUMMARY | xv |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 OBJETIVO | 2 |
| 1.2 HIPÓTESIS..... | 2 |
| II. LITERATURA REVISADA..... | 3 |
| 2.1 DEFINICIÓN Y MORFOLOGÍA DE LOS HONGOS | 3 |
| 2.1.2 Clasificación taxonómica de micorrizas vesículo arbusculares (MVA)..... | 5 |
| 2.2 DESARROLLO DE LA SIMBIOSIS DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES (MECANISMOS DE COLONIZACIÓN) | 6 |
| 2.2.1 Primeros eventos de señalización..... | 6 |
| 2.2.2 Formación del apresorio..... | 9 |
| 2.2.3 Penetración de la raíz..... | 10 |
| 2.3 EFECTO EN LAS PLANTAS | 13 |
| 2.3.1. Efecto de la micorriza contra patógenos de las plantas | 15 |
| 2.3.2 Efecto de las MVA en el cultivo de maíz (<i>Zea mays</i> L.)..... | 16 |
| 2.4 FUNCIÓN DE LAS MICORRIZAS VESÍCULO ARBUSCULARES (MVA)..... | 18 |
| 2.4.1 Fósforo en las plantas | 21 |
| 2.4.2 Nitrógeno en las plantas | 22 |
| 2.5 ECOLOGÍA DE LA MICORRIZA..... | 24 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6 IMPORTANCIA ECOLÓGICA Y ECONÓMICA DE LAS MICORRIZAS | 27 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 29 |
| 3.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO..... | 29 |
| 3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL..... | 29 |
| 3.3 MUESTREO | 30 |
| 3.4 ANÁLISIS DE LABORATORIO | 30 |
| 3.4.1 Tinción..... | 30 |
| 3.4.2 Determinación del porcentaje de micorrización..... | 32 |
| 3.5 ANÁLISIS DE DATOS | 33 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 34 |
| 4.1 MICORRIZAS VESÍCULO ARBUSCULARES EN LA RIZÓSFERA | 34 |
| 4.1.1 Localización de estructuras en raíz..... | 34 |
| 4.1.2 Porcentajes de micorrización | 35 |
| 4.2 RELACIÓN ENTRE LA MICORRIZA VESÍCULO ARBUSCULAR Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SUELO | 37 |
| 4.3 RELACIÓN ENTRE LA PRODUCCIÓN Y LA MICORRIZA VESÍCULO ARBUSCULAR | 40 |
| V. CONCLUSIÓN | 45 |
| VI. LITERATURA CITADA..... | 47 |
| VII. APÉNDICE | 51 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | Página |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Cuadro 1.- Grado de micorrización por muestra..... | 36 |
| Cuadro 2.- Características físico-químicas del suelo de los sistema de producción alternativo y convencional con relación al grado de micorrización..... | 37 |
| Cuadro 3.- Promedio del peso del elote y planta y su relación en cultivo Alternativo (A) y Convencional (C)..... | 41 |
| Cuadro 4.- Promedio de longitud polar-ecuatorial del elote en producción Alternativa (A) y Convencional (C)..... | 42 |
| Cuadro 5.- Relación del porcentaje de micorrización con la producción. En donde MS es materia seca y FV representa al forraje verde y %MS-FV es el porcentaje o relación de la MS y el FV. | 42 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Página |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Figura 1.- Asociación de micorrizas vesículo arbusculares. Hifa intra-celular (1), célula de la epidermis (2), arbusculo (3), vesícula (4), hifa extra-radical (5) y espora (6), (foto tomada por Arreola-Cruz, 2010). | 5 |
| Figura 2.- Raíz de <i>maianthemum racemosum</i> mostrando el Apresorio (AP), vesícula (V) e hifas (C) (blog, 2009)..... | 10 |
| Figura 3.- Forma de montaje de raíces para la evaluación del grado de infección micorrícica. P, portaobjetos; C, cubreobjetos; PE, pasos equidistantes y SR, segmentos de raíz. | 33 |
| Figura 4.- Grado de micorrización por muestra..... | 36 |
| Figura 5.- Parte de la corteza de la raíz mostrando vesículas bien desarrolladas. Vesícula (1), hifas (2), y células de la corteza (3), (10x), (foto tomada por Arreola-Cruz, 2010)..... | 39 |
| Figura 6.- Arbusculo e hifas presentes en la raíz de plántulas micorrizadas en laboratorio. Arbusculo (1), hifa (2) y la epidermis (3), (40x), (foto tomada por Arreola-Cruz, 2010)..... | 40 |
| Figura 7.- Relación de la Materia Seca y el Forraje Verde en producción Alternativa (A) y Convencional (C)..... | 41 |
| Figura 8.- Relación del porcentaje de micorrización con la producción alternativa (A) y convencional (C). En donde MS es materia seca y FV representa al forraje verde y % MS-FV es el porcentaje o relación de la MS y el FV..... | 43 |

ÍNDICE DE APÉNDICE

| Anexo | Página |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Anexo 1.- Método de Student para ANAVA de parcelas apareadas con grado de significancia menor o igual a 0.05 (Reyes, 1999). | 51 |
| Anexo 2.- Preparación de la solución FAA. | 53 |
| Anexo 3.- Preparación del lactofenol. | 53 |
| Anexo 4.- Preparación del azul de triptano..... | 54 |
| Anexo 5.- Labores culturales..... | 54 |

RESUMEN

Evidencias recientes han mostrado que la diversidad de micorrizas vesículo arbusculares (MVA) puede influir en la productividad y en las comunidades vegetales, así como en las relaciones competitivas y funcionamiento general de los ecosistemas naturales.

En el presente trabajo se buscó determinar la colonización de raíces de maíz, y el sistema productivo; ya sea el alternativo o el convencional que favorezca a la asociación, así como también el efecto que tienen las MVA de la rizosfera en la producción como es la materia seca (MS), forraje verde (FV), el peso del elote, peso de la planta, la longitud ecuatorial y la longitud polar, y la influencia que tienen las características físicas y químicas del suelo sobre las micorrizas vesículo arbusculares (MVA).

Durante el muestreo se encontró que en el sistema de producción alternativo las raíces estaban micorrizadas con 88.54%, y para la producción convencional el grado de micorrización fue de 91.62%. En lo que respecta a los factores del suelo, se encontraron similitudes en los valores fisicoquímicos para ambos casos a excepción de los valores tanto fosforo y pH donde el valor más alto presente fue en el sistema alternativo, los cuales influyen en la micorrización.

PALABRAS CLAVES:

Micorrizas arbusculares, maíz, productividad, sostenibilidad, agroecológico y agrícola.

SUMMARY

Recent evidence to shown that diversity vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM) can affect productivity and plant communities, as well as competitive relationships and overall functioning of natural ecosystems.

This study aimed to see the colonization of maize roots, and the production system, either the alternative or conventional conducive to the association, as well as their effect the MVA of the rhizosphere in production as is the dry matter (MS), green forage (FV), ear weight, plant weight, length, equatorial and polar length, and the influence of physical and chemical characteristics of soils on vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM).

During sampling it was found that alternative production system mycorrhizal roots were 88.54% and for conventional production the degree of mycorrhization was 91.62%. In regard to soil factors, they found similarities in the physicochemical values for both cases except those where the values of both phosphorus and pH present was highest in the alternative system, which influence the mycorrhization.

KEYWORDS:

Arbuscular mycorrhiza, maize, productivity, sustainability, agro-ecological and farming.

I. INTRODUCCIÓN

Hoy día sabemos que casi todas las plantas perennes crecen y se desarrollan en relación estrecha con otros seres vivos, no descubiertos anteriormente por ser microscópicos. Se trata de bacterias y hongos, que viven en asociación íntima con las raíces y algunas veces con los tallos y que subsisten a expensas de la planta hospedera (Kugler, 1986).

Son considerados como obligadamente dependientes de las plantas como fuente de carbono orgánico, y se calcula que entre 4 y 20 % de los fotosintatos netos generados por la planta son transferidos hacia el hongo (Villegas y Cifuentes, 2004).

A cambio de esto, los hongos le suministran a la planta nitrógeno, fósforo, cobre y zinc, al tiempo que segregan elementos que impiden el desarrollo de otros microorganismos patógenos. Esta relación de beneficio mutuo entre dos seres vivos se llama mutualismo (Kugler, 1986).

La Micorriza Vesicular-arbuscular (MVA) es de interés particular debido al gran número de cultivos agrícolas en los que ocurre. Las Fabáceas y las Gramíneas, son las familias de mayor importancia económica en las cuales ocurre la MVA

generalmente. Si las infecciones tienen un efecto leve directo o indirecto sobre el crecimiento vegetal su importancia económica es considerable (Gerdemann, 1986).

La información obtenida en este tipo de trabajos se puede conducir a un uso adecuado de estos microorganismos como biofertilizantes, optimizando la producción en sistemas agrícolas y recuperación de ambientes degradados. Por tales motivos, en este trabajo se analizó el proceso productivo que favorezca la colonización de MVA asociadas al cultivo de maíz (*Zea mays* L.) comparando los tipos de manejo alternativo contra manejo convencional.

1.1 OBJETIVO

Determinar qué proceso productivo favorece el incremento de la población micorrícica en las raíces del maíz (*zea mays* L.).

1.2 HIPÓTESIS

El sistema de producción alternativa de maíz presenta mayor proporción micorrícica que en un sistema de producción convencional.

II. LITERATURA REVISADA

2.1 DEFINICIÓN Y MORFOLOGÍA DE LOS HONGOS

Los hongos una forma de presentarse en la naturaleza son las micorrizas, la cual es una asociación de beneficio mutuo (no patogénica) entre un hongo del suelo y la raíz de las plantas superiores; la palabra micorriza (raíz-hongo) del griego *mykes* (hongo) y *rhiza* (raíz) fue reconocido por Frank (1885), para describir dos organismos diferentes que forman un solo órgano microbiológicamente, donde ambos se benefician (Sierverding, 1991).

Las micorrizas son hongos que comprenden complejas interacciones pertenecientes a diferentes grupos taxonómicos y alrededor del 90% de las plantas terrestres (Bonfante, 2003).

Tradicionalmente se reconocen cinco grupos de micorrizas basándose en criterios morfológicos, anatómicos y sistemáticos tanto de las plantas como de los hongos. Tales grupos son: ectomicorrizas (formadores de manto), micorrizas ericales (endomicorrizas), micorrizas de Orchidaceae (endomicorriza), arbutoides (ectoendomicorrizas) y micorrizas arbusculares también llamadas endomicorrizas (Aguilera et al., 2008).

Aunque se han reconocido varios tipos de micorrizas de acuerdo al grupo al que pertenece el hongo participante y la manera en que están asociados a las plantas, los dos tipos más sobresalientes son la ectomicorriza y la micorriza arbuscular o endomicorriza (Villegas y Cifuentes, 2004).

Dentro de estas últimas se incluyen a las micorrizas vesículo arbusculares (MVA), las cuales son llamadas de esta manera debido a la conformación que toman dentro de las raíces que colonizan ya que forman como su nombre lo indica arbusculos y vesículas, las cuales tienen como función el intercambio de nutrientes y el almacenamiento de estos respectivamente. (Flores, 1998). En la Figura 1 se muestra un esquema representando esta asociación.

El estudio de las micorrizas vesículo arbusculares (MVA) revela que las especies se encontraban ya establecidas durante el Mesozoico temprano y que morfológicamente han permanecido relativamente constantes desde el Cretácico hasta la época moderna (Camargo-Ricalde, 1998).



Figura 1.- Asociación de micorrizas vesículo arbusculares. Hifa intra-celular (1), célula de la epidermis (2), arbúsculo (3), vesícula (4), hifa extra-radical (5) y espora (6), (foto tomada por Arreola-Cruz, 2010).

2.1.2 Clasificación taxonómica de micorrizas vesículo arbusculares (MVA)

La clasificación taxonómica propuesta por Salamanca y Silvia, 1998 es la siguiente:

División: Eumycota
Grupo: Zygomycotina (Ficomicetos)
Clase: Zigomycetes

Orden: Glomales
Sub orden: Glomineae
Familia: Aqualosporaceae
Géneros: *Aqualospora*
Entrophospora
Familia: Glomaceae
Género: *Glomus*
Sclerocystis
Sub orden: Gigasporineae
Familia: Gigasporaceae
Géneros: *Gigaspora*
Scutellospora

2.2 DESARROLLO DE LA SIMBIOSIS DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES (MECANISMOS DE COLONIZACIÓN)

2.2.1 Primeros eventos de señalización

Para ambos simbios, el período antes del contacto físico (formación de los apresorios), el cual es una estructura de fijación que se forma en las hifas unicelulares laterales cortas y especializadas, que se caracterizan por que se adhieren a la cutícula de la raíz de la planta hospedante cuya función es el

mecanismo de sujeción y precede la perforación de la cutícula para la infección, (Harrison, 1999) implica el reconocimiento y la atracción de socios adecuados y otros eventos para promover una alianza (Paszkowski, 2006).

Los hongos micorrízicos arbusculares pueden influir en la comunidad microbiana del suelo a través de diferentes mecanismos, incluida la modificación de la señalización en la planta o defensas relacionadas con las vías bioquímicas y la modificación de la naturaleza, cantidad, y la distribución de carbono derivados de los compuestos en el suelo (Atul-Nayyar et al., 2009).

Los eventos de señalización entre la raíz-huésped y hongos micorrízicos arbusculares antes y después de la colonización aún no son plenamente comprendidos, sin embargo, distintas etapas morfológicas de hongos micorrízicos arbusculares de desarrollo han sido definidos, y pueden ser clasificados como "huésped-dependiente" y "huésped-independiente" (Gadkar et al., 2001).

La germinación de las esporas de los hongos MA y el crecimiento inicial de los gérmenes de las hifas puede ocurrir en ausencia de la raíz de la planta, sin embargo, tanto los exudados de raíces y los compuestos volátiles, como el CO₂ puede estimular al mismo tiempo estos procesos (Harrison, 1999).

En algunos casos, los exudados de la raíz también obtienen una rápida y extensa ramificación de las hifas al entrar en los alrededores de la raíz, una respuesta que se ha observado como el enfoque de hifas de las raíces de las plantas huésped, pero no cuando ellos encuentran raíces no - huéspedes, lo que indica que el reconocimiento del huésped se produce. En este caso, la falta de reconocimiento de los no-huéspedes podría ser debido a la falta de una señal, sin embargo, en otros casos, el estado de los no-huéspedes probablemente es debido a los compuestos inhibidores (Harrison, 1999).

La gama de componentes activos presentes en los exudados de la raíz es desconocida. Sin embargo, algunas de las actividades son probablemente debido a los compuestos de flavonoides y fenólicos que estimulan el crecimiento de algunas especies de hongos MA. Las moléculas especiales responsables de provocar hifas ramificadas también se desconocen pero, en base a su tamaño estimado, también podrían ser derivados fenólicos o flavonoides. Dado que los compuestos flavonoides son activos en concentraciones muy bajas, se supone que no tienen un efecto nutricional, pero actúan como señales para estimular o inhibir el crecimiento (Harrison, 1999).

Los flavonoides / isoflavonoides de las plantas se unen a los receptores de estrógeno, y recientes experimentos que utilizan estrógenos y anti-estrógenos

proporcionan evidencia preliminar de la presencia de un receptor de hongos MA capaces de alcanzar una biochanin A y estrógenos (Harrison, 1999).

La fase asimbiótica de los hongos se limita a la germinación de esporas y producción de una cantidad limitada de micelios, que también se produce en ausencia de la planta huésped. Las señalizaciones resultan necesarias para inducir cambios morfológicos en el hongo y para activar el crecimiento (Balestrini y Lanfranco, 2006).

2.2.2 Formación del apresorio

El desarrollo de la simbiosis se inicia cuando la hifa de un hongo tiene contacto con la raíz de una planta huésped, donde se diferencia para formar un apresorio (Harrison, 1999).

El desarrollo de apresorios se puede considerar como un resultado exitoso de los eventos de reconocimiento presimbiótico cuando hongos y plantas se asocian para una interacción comprometida (Figura 2). Aparte de características físicas también se requieren características químicas para la formación de estos apresorios, la penetración necesita el apoyo de células intactas (Paszkowski, 2006).

Estas paredes purificadas probablemente consisten en una mezcla de polisacáridos, como celulasas y poligacturonas y algunas proteínas. Las moléculas de hidratos de carbono actúan como señales en numerosas interacciones de hongos con otras plantas y son los posibles candidatos para la inducción de apresorios en la simbiosis MVA (Harrison, 1999).

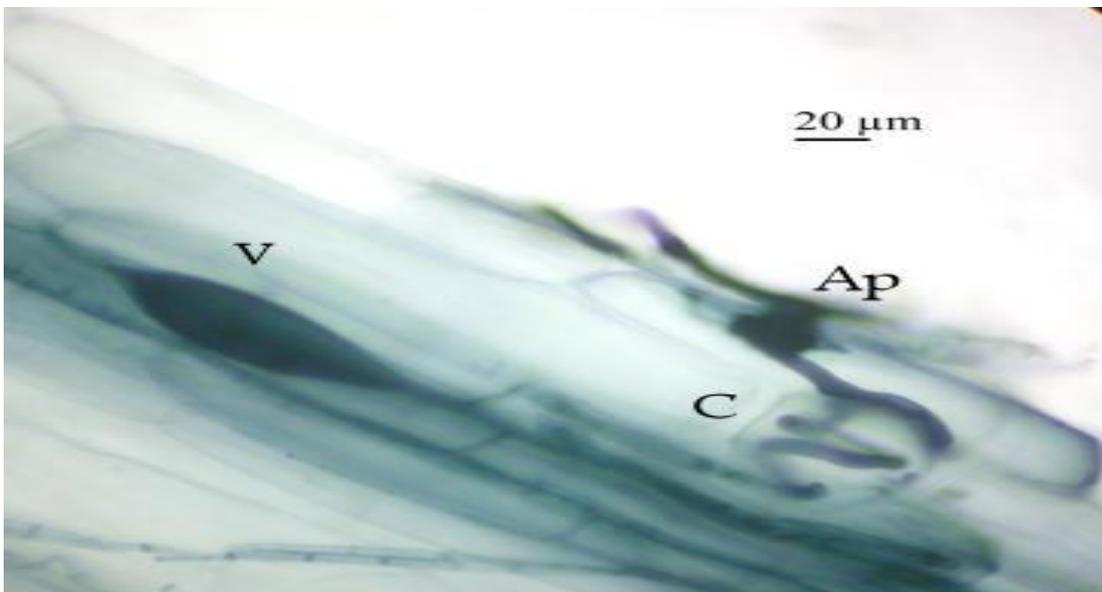


Figura 2.- Raíz de *maianthemum racemosum* mostrando el Apresorio (AP), vesícula (V) e hifas (C) (blog, 2009).

2.2.3 Penetración de la raíz

La formación de Apresorio es seguido por el desarrollo de la penetración de una hifa y la penetración de la raíz. Esto puede ocurrir de diferentes formas, en

algunas especies, las hifas entran forzando su camino entre dos células epidérmicas, mientras que en otros casos, la hifa penetra en una epidermis o en la pared celular del pelo de la raíz y crece a través de la célula (Harrison, 1999).

Los mecanismos exactos involucrados en la penetración se desconocen, sin embargo, por analogía a un número de patógenos biotróficos, se ha sugerido que son específicos, la producción localizada en la pared celular de las enzimas de degradación, en combinación con la fuerza mecánica, puede facilitar la entrada de las hifas sin inducir respuestas de defensa (Harrison, 1999).

Los hongos micorrizicos arbusculares producen exo y endoglucanasas, celulasas, xyloglucanasas, y enzimas pectolíticas incluyendo poligalacturonasa, todo lo que aceleraría su paso a través de una pared celular. Desde que los apresorios se desarrollaron en los fragmentos de la pared de las células epidérmicas purificadas no forman una penetración viable de la hifa y no penetran en la pared, los procesos posteriores a la formación de apresorios probablemente requerirá una célula intacta. Una amplia gama de plantas mutantes sobre las cuales los hongos MA pueden formar apresorios, pero no pueden desarrollarse más lejos son la prueba directa que la planta controla este paso del desarrollo en la asociación (Harrison, 1999).

Se han utilizado mutantes bloqueados en la etapa de esta simbiosis tales como: *Pisum sativum*, *Medicago sativa*, *Vicia faba*, *Phaseolus vulgaris*, *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus*, y *Lycopersicon esculentum*. Los fenotipos de estas asociaciones mutantes son bastante similares a un nivel morfológico y se dividen generalmente en dos grupos definidos. En asociación con el *P. sativum*, *L. esculentum*, y los mutantes de *Medicago*, los hongos forman apresorios que con frecuencia son grandes y deformados y que se convierten en hifas septadas cuando los hongos no entran en la raíz. En una de las líneas mutantes de *Medicago sativa*, el número de apresorios formado en el aumento de mutantes, es una posible consecuencia de la incapacidad para penetrar, sin embargo, el aumento del número de apresorios no se reportó para los mutantes de *P. sativum*. En *P. sativum*, el fenotipo no penetrante se conoce como *myc(-1)*. Ellos pertenecen a cinco grupos de complementación, lo que indica que la entrada en la raíz está bajo control genético complejo. Los rasgos segregan como único loci recesivo y la condición está determinada por las raíces (Harrison, 1999).

Los mutantes del *P. vulgaris* y *L. japonicus* muestran un fenotipo ligeramente diferente de las otras especies y la formación del apresorio es seguido por la penetración de la primera capa de la célula. La asociación entonces aborta en

la epidermis de la raíz en donde las hifas inflamadas y deformes son visibles dentro de estas células (Harrison, 1999).

En los mutantes de *Lotus*, las hifas de vez en cuando logran superar el bloqueo en la epidermis y el crecimiento de las hifas deformes continúa, la producción normal de las estructuras internas de las micorrizas. Desde que estos son indistinguibles de tipo silvestre, se ha sugerido que los genes mutados no son necesarios para las fases posteriores de crecimiento. Todos los mutantes de las micorrizas de las leguminosas también se ven afectados en su capacidad de formar una simbiosis de fijación de nitrógeno con especies de *Rhizobium* y así definir un conjunto de genes, denominados genes sym, esencial para ambas simbiosis. (Harrison, 1999).

2.3 EFECTO EN LAS PLANTAS

La micorrización proporciona una superficie de absorción incrementada y más eficaz. En efecto, se acepta que el papel clave de las micorrizas radica en que las hifas del hongo extienden el campo de absorción de la raíz mas allá de la zona normal de agotamiento radicular (en 1-5 mm.), permitiendo a la raíz incrementar su superficie de absorción y explorar un volumen de suelo mayor del que lo hacen las raíces no micorrizadas, concretamente hasta 7 cm de la superficie radicular. Además se ha logrado poner de manifiesto de que las

raíces micorrizadas absorben más eficazmente los fosfatos que las no micorrizadas (Hermart et al., 2009).

A su vez, las MVA son heterótrofos y dependen totalmente de las plantas que colonizan para obtener los compuestos orgánicos necesarios para su crecimiento (Martinez y Pugnaire, 2009).

Los iones más móviles de la solución de suelo, como NO_3 , son más fácilmente accesibles para las raíces absorbentes que los poco móviles como los de P, Zn, Cu y Mo, y en menor grado el K y S. La absorción de los iones menos móviles depende del volumen de suelo explorado por el sistema de raíces absorbentes. Diversas estimaciones indican que 1 cm de raíz micorrizada contiene entre 80 y 3000 cm de micelio extrarradical. La micorriza arbuscular absorbe sus nutrientes del mismo reservorio (solución del suelo) que la raíz. Además promueven la estimulación de sustancias reguladoras de crecimiento, incremento de la tasa fotosintética, aumento de la fijación de N por bacterias simbióticas o asociativas, interacciones de la microflora y microfauna, que ocurre en el suelo, en la periferia de las raíces (Blanco y Salas, 1997).

La simbiosis mejora la captación de P, Ca, Cu, S, Zn y Fe, y esto es especialmente importante en el caso de los elementos inmóviles como el P, Zn y Cu, ya que su disponibilidad para la planta es limitada (Nogales, 2008).

2.3.1. Efecto de la micorriza contra patógenos de las plantas

Se ha demostrado también que los hongos micorrizas pueden desarrollar una función protectora contra las enfermedades causadas por hongos (Kugler, 1986).

Hongos y bacterias antagónicos producen sustancias tóxicas (antibióticos) o son eficientes competidores por los exudados radiculares que es el sustrato usado por los hongos micorrícicos antes de que estos penetren en la raíz y lleguen a ser biotróficos (Blanco y Salas, 1997).

La mayoría de la información publicada acerca de este efecto protector de las asociaciones micorrícicas está limitada a su efecto en patógenos es consecuencia de varios mecanismos que probablemente interactúan entre ellos, como el incremento de vigor de la planta, la compensación de daños, la competencia directa con los microorganismos patógenos por el mismo espacio en la raíz, la protección de cambio en el sistema radical y en la micorrizosfera, la activación de mecanismos de defensa de la planta o la protección frente a

estrés abióticos. Todos estos efectos confieren protección a la planta de manera indirecta (Nogales, 2008).

Se ha observado una competencia por el mismo espacio de la raíz en el caso de MA y patógenos de raíz como los nematodos fitoparásitos que colonizan los mismos tejidos radicales que las MVA, pero se desarrollan en distintas células corticales y también se ha visto que algunos patógenos como *Phytophthora* no penetran en las células que contienen arbusculos (Nogales, 2008).

Actualmente hay experiencias exitosas a nivel de campo empleando formulaciones comerciales de hongos benéficos (*Glomus intrarradices* y *Trichoderma harzianum*) antagonistas de *Fusarium oxisporum* que ataca al tomate, ya que liberan sustancias tóxicas (antibióticos) o son eficientes competidores por los exudados radicales que es el sustrato usado por los hongos micorrízicos antes de que estos penetren en la raíz y lleguen a ser biotróficos (Blanco y Salas, 1997).

2.3.2 Efecto de las MVA en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.)

En condiciones de estrés, las plantas presentan cambios en crecimiento y morfología que se relacionan con alteraciones en el metabolismo y en la composición bioquímica de las plantas. Plantas asociadas con microorganismos

del suelo (micorrizas arbusculares) han desarrollado estrategias de adaptación, las cuales han sido el resultado de complejos procesos evolutivos. Resultados experimentales muestran cómo plantas de maíz micorrizadas, acumulan azúcares (carbohidratos) al ser sometidas a temperaturas bajas, sequía y niveles bajos de radiación, esta condición mejora la capacidad para soportar estrés (Roveda y Polo, 2007).

Cultivos de cobertura aumentan mucho la micorrización, lo mismo que la siembra de maíz y sorgo, que tienen alta dependencia micorrícica e incrementan su población (Ferraris, 2008).

La respuesta de la planta a la inoculación con MVA depende del nivel de fertilidad del suelo, de la planta hospedera y del hongo micorrícico arbuscular. Plantas micótrofas obligadas pueden presentar una respuesta alta (yuca) o leve; plantas micótrofas facultativas podrían presentar una respuesta a la micorriza alta (maíz) o baja (sorgo) (Blanco y Salas, 1997).

En el estado de Oaxaca, el INIFAP en el 2002 realizó acciones de validación e investigación en biofertilizantes en las regiones de los Valles Centrales, Mixtzaachila y Tuxtepec. En el caso de los Valles Centrales, en la Comunidad de Zaachila se establecieron dos hectáreas con 16 lotes en “parcelas

apareadas” con maíz criolla y la variedad V-233. Los resultados indicaron un incremento del 11% en el rendimiento del grano con la aplicación del hongo micorrícico en comparación con el testigo (Aguirre-Medina y Cano-García, 2008).

2.4 FUNCIÓN DE LAS MICORRIZAS VESÍCULO ARBUSCULARES (MVA)

Los efectos beneficiosos de las micorrizas vesículo arbusculares (MVA) son bien conocidos, especialmente en la nutrición mineral de las plantas y en la protección contra agentes patógenos del suelo, entre otros. Si bien el 80% de las plantas terrestres son capaces de formar micorrizas, se considera que dicha asociación no tiene especificidad taxonómica. Sin embargo, evidencias recientes han demostrado que la diversidad de Hongos Micorrizas Arbusculares pueden influir en la productividad y diversidad de las comunidades vegetales, así como en las relaciones competitivas y funcionamiento general de los ecosistemas naturales (Lovera y Cuenca, 2007).

Las MA pueden ser utilizadas para acelerar la tasa de sucesión o de recuperación de un ecosistema degradado (Cuenca et al., 2006).

Las hifas de los hongos formadores de las MVA son consideradas como importantes agentes aglutinadores de partículas del suelo y se han descrito correlaciones positivas entre hifas de hongos micorrizicos arbusculares y estabilidad de agregados en sistemas naturales. Existen evidencias que sugiere que la glomalina (GRSP), una glicoproteína producida en gran cantidad por las hifas de los hongos micorrizicos arbusculares y que tienen una capacidad cementante de las partículas del suelo, están fuertemente involucradas en dicha agregación (Borie y Morales, 2008).

El manejo agrícola conlleva varios problemas ambientales entre los que destaca la excesiva aplicación de fertilizantes químicos que terminan contaminando los cuerpos de agua y causando su eutroficación. La adición de fertilizantes sin el análisis previo de las condiciones del suelo, además, puede conducir a un desbalance iónico de los mismos, con los consiguientes problemas para las plantas que viven en dicho suelo y sus micorrizas asociadas (Herrera-Peraza et al., 1984).

En las últimas décadas se ha intentado cambiar en el ámbito global los paradigmas de la producción agrícola que implicaban el uso intensivo de energía, maquinaria y sustancias químicas (la llamada revolución verde) por un nuevo concepto, el de la agricultura sustentable. Según ese nuevo paradigma la

agricultura sustentable es un "sistema integrado de prácticas de producción vegetal y animal que a largo plazo debe: a) satisfacer las necesidades humanas de fibra y alimentos, b) mejorar la calidad ambiental y la base de recursos naturales de los cuales depende la economía agrícola, c) hacer un uso eficiente de los recursos no renovables, d) sostener la viabilidad económica de las actividades agrícolas y e) aumentar la calidad de vida de los agricultores y de la sociedad como un todo" (Jeffries y Barea, 2001).

Además, gracias al uso más eficiente que hacen las plantas micorrizadas de los nutrientes del suelo, permiten ahorrar fertilizantes químicos y reducir por consiguiente los problemas de contaminación con el uso excesivo de fertilizantes (Salamanca y Silvia, 1998).

Por otra parte, las plantas micorrizadas son capaces de hacer un mejor uso de los fertilizantes orgánicos, bien sea debido a la producción de fosfatasas por parte de los hongos mismos o bien gracias a la asociación existente entre las hifas de las MVA y los microorganismos que participan en la mineralización de la materia orgánica (Azcón y Barea, 1992).

2.4.1 Fósforo en las plantas

Uno de los nutrimentos que más se ha estudiado en relación con su absorción mediada por micorrizas arbusculares, es el fósforo, debido a que las plantas lo requieren en relativamente grandes cantidades, pero que también se encuentran en concentraciones muy bajas en la solución del suelo. La razón principal para este fenómeno, es que los iones de fosfato inorgánico se unen rápidamente a coloides del suelo o se fijan como sales de fierro o aluminio volviéndose relativamente inmóviles además de que una gran proporción del fósforo inorgánico total está normalmente en forma insoluble, no disponible fácilmente para las plantas (Aguilera et al., 2008).

El fósforo es un nutriente mineral esencial, este constituye el 0.2% (del peso seco) de cada célula de la planta por lo que se requiere en considerables cantidades. En muchos suelos, la concentración de fósforo disponible para las plantas limita el crecimiento. Por consiguiente, mejorar la adquisición de fósforo tiene un impacto significativo en el crecimiento de la planta, su salud, y como consecuencia en la biodiversidad de la planta y la productividad del ecosistema. Otros aspectos de la simbiosis son también importantes para la planta como es el hecho de que la fase extrarradical de hifas de la micorriza arbuscular causa un impacto favorable al suelo formando agregados que favorecen su textura (Azcón y Barea, 1996).

Las MVA bien podrían representar el segundo componente más grande en biomasa en muchos ecosistemas terrestres; así mismo, se ha encontrado que los MVA asociados con las plantas, reciben entre el 60% y el 90% del carbono de los árboles del dosel, pudiendo ser un sumidero importante del carbono de la comunidad (Montaño et al., 2007). Así, en esta simbiosis también juega un papel significativo en el ciclo del carbono entre la atmósfera y la biosfera (Azcón y Barea, 1996).

Las micorrizas pueden ser importantes para la nutrición de las plantas por que los hongos pueden disolver minerales de sílice en algún grado, liberando elementos esenciales para aquellos (Sierverding, 1991).

2.4.2 Nitrógeno en las plantas

Se coloca entre los principales elementos biogeoquímicos; sin embargo, es tan estable, que apenas se combina con otros elementos y, por tanto, es difícil que los organismos lo asimilen, ya que primero necesitan desdoblarlo y emplearlo en la síntesis de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos (ADN y ARN) y otras moléculas fundamentales para su metabolismo. Por lo tanto, teniendo esto en cuenta, es fácil notar su importancia en la vida de cientos de organismos (CICANA, 2001).

El nitrógeno es también uno de los elementos más abundantes de la tierra. Las formas más importantes en que se encuentra en la naturaleza son: nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O), amonio (NH_4^+), amoníaco (NH_3) y nitrógeno elemental (N_2). Este último comprende el 78% de la atmósfera terrestre, es inerte, no tiene efecto sobre la calidad del ambiente y no puede ser utilizado directamente por las plantas (Elizondo, 2006).

El nitrógeno es el nutriente más ampliamente utilizado en la fertilización agrícola, ya que las formas más disponibles en el suelo son generalmente insuficientes para satisfacer los requerimientos de las cosechas y cultivos (Elizondo, 2006).

Es necesario tener presente que el fenómeno de simbiosis no se limita a un solo organismo simbiótico: puede haber colaboración, por ejemplo, entre bacterias de tipo *Rhizobium*, fijadoras del nitrógeno de la atmósfera, y hongos micorrizas (Kugler, 1986).

También la interacción de la micorriza con *Frankia* (actinomicete fijador de N) es sinérgica (Blanco y Salas, 1997).

Por otro lado, está demostrado que la micorriza influye en forma directa o indirecta en la absorción de otros iones minerales (N, K, Ca, Mg, Fe, Mn) (Blanco y Salas, 1997).

2.5 ECOLOGÍA DE LA MICORRIZA

Las MVA se encuentran en la mayoría de los suelos (Corvetto, 2000). Los hongos micorrizicos son un importante grupo de microorganismos nativos del suelo que constituyen sustancialmente en el establecimiento, productividad y longevidad de los ecosistemas naturales y agroecosistemas. Las múltiples interacciones ecológicas que ocurren en el suelo son responsables del comportamiento de la micorriza y explica las diferencias observadas en la respuesta de las plantas a la inoculación en invernadero, en comparación con la inoculación en el campo (Salamanca y Silvia, 1998).

El desarrollo de micorrizas se puede ver afectado por factores abióticos como el clima y factores físico-químicas del suelo y por factores bióticos como son: El tipo de comunidad vegetal, condiciones fisiológicas de la planta hospedera, interacciones con otros organismos del suelo, la introducción de prácticas antrópicas (deforestación, sistema de cultivo, aplicación de agroquímicos, etc.) (Salamanca y Silvia, 1998).

En algunos estudios realizados en México, particularmente en el altiplano potosino-zacatecano, se ha denotado que la variación de la capacidad de esporulación de los hongos, no solo depende del hospedante al que los hongos micorrizicos arbusculares se encuentran asociados si no también, esta característica es modificada por periodos de lluvia o sequia (González-Chávez et al., 2008).

Las plantas colonizadas por MVA tiene mayores recursos para afrontar condiciones de sequia debido a que adquieren modificaciones nutricionales, fisiológicas, bioquímicas y morfológicas. A pesar de que los mecanismos involucrados en la orquestación micorrícica para la tolerancia a la sequia son muy complejos, la mayoría de los efectos pueden estar relacionados con el mejoramiento del estatus nutricional, especialmente de fosforo (P) y de nitrógeno (N). Este mejor estatus nutricional incrementa la habilidad de las plantas con MVA para extraer agua del suelo de manera más efectiva y así mantener una alta hidratación foliar bajo condiciones de sequia y recuperarse rápidamente cuando se restablece la irrigación, En consecuencia, las plantas con MVA tiene un menor estrés hídrico y pueden mantener los estomas parcialmente abiertos durante más tiempo y realizar sus funciones fotosintéticas. Un estatus hídricos superior y una mejor eficiencia fotosintética favorece el desarrollo de una mejor área foliar, la cual permite mantener una

movilización de nutrimentos entre fuente y destino en las plantas micorrizadas, respecto a las plantas no micorrizadas en condiciones de sequía (Subramanian y Chritiane, 2008).

Por tratarse de una asociación obligatoria entre hongo y planta, la ecología de la micorriza está condicionada en gran parte de la ecología de la planta (Guerrero, 1996).

En los ecosistemas naturales o antrópicos (cultivos agrícolas, plantaciones forestales) hay al menos dos niveles de aproximación de la ecología de la micorriza. El nivel rizosférico: interacciones entre micorrizas y la comunidad biótica el suelo. El nivel fitoecológico: relaciones espacio-temporales entre la micorriza y la vegetación (Guerrero, 1996).

La movilización de los nutrientes entre el suelo y la raíz, necesario para el desarrollo de la vegetación, es un proceso regulado en gran parte por la comunidad biótica de la rizosfera y en ella juega un papel central la micorriza. Las interacciones entre micorrizas y microorganismos del suelo son determinantes en el funcionamiento de los ciclos nutritivos en un ecosistema pero además, afectan el balance entre los procesos saprofiticos, patogénicos y simbióticos en el medio ambiente edáfico (Guerrero, 1996).

2.6 IMPORTANCIA ECOLÓGICA Y ECONÓMICA DE LAS MICORRIZAS

Las micorrizas arbusculares son asociaciones ecológicamente mutualista entre hongos del phylum *Glomeromycota* y la inmensa mayoría de las plantas, pudiendo ser una herramienta muy útil para la agricultura sustentable (Souza et al., 2006).

Se les conoce por crecer en suelos pobres e incluso penetra la matriz de la roca, su importancia no debe ser subestimado (Allen, 2007).

La micorrizología es un campo interdisciplinario de las ciencias biológicas que se ha extendido en todo el mundo, su objetivo es la de aumentar la producción de alimentos y reducir los costos de inversión e impactos ambientales que producen los ecosistemas modernos (Souza et al., 2006).

Al no contar con gran cantidad de recursos económicos una opción sería el uso de micorrizas ya que aumenta la producción y en consecuencia la rentabilidad de nuestro cultivo. La investigación de estos organismos, como objetivo práctico, es aumentar la producción, reducir el uso de fertilizantes, productos químicos y contribuir a un patrón de agricultura sostenible y menos dependiente de insumos (Souza et al., 2006).

Existen evidencias de mejor desarrollo de la actividad simbiótica planta-microorganismo y su efecto en el rendimiento en suelos de baja fertilización. La aplicación de estos productos, los biofertilizantes, en las áreas menos favorecidas, representan una oportunidad para incrementar la producción y productividad de los cultivos a bajo costo. El hongo micorrizógeno puede transportar los nutrimentos al sistema radical de las plantas y hacer más eficiente la utilización de la fertilización química (Aguirre-Medina y Cano-García, 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

El estudio se realizó en dos etapas la primera se llevó a cabo en el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Regional Laguna la cual se ubica entre los meridianos 25° 56" longitud norte; 103° 37" longitud oeste, con una altitud de 1121.968 msnm (GPS) con una temperatura media anual de 20 a 22°C y una precipitación media anual de 253 mm/año (CONAGUA, 2010), y la segunda etapa consistió en el análisis de laboratorio de agroecología de dicha institución.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental de parcelas apareadas con 2 tratamientos y 4 repeticiones. Las variables a evaluar fueron las siguientes: suelo, follaje, raíz y mazorca.

En suelo se consideraron los siguientes parámetros (pH, Fosforo, Potasio, Nitrógeno, Calcio, Magnesio, Sodio, Cobre, Fierro, Zinc, Manganeso, Capacidad de Intercambio Catiónico, Materia Orgánica, Densidad Aparente, Conductividad Eléctrica y Textura.), en el follaje se evaluó la materia seca

(MS) y el forraje verde (FV), en la raíz se evaluó el porcentaje de micorrizas, y el diámetro ecuatorial y polar de la mazorca.

3.3 MUESTREO

Se tomaron 8 muestras de raíz del cultivo del maíz al final del ciclo productivo para cada sistema de producción (alternativo y convencional), utilizando un machete para cortar la planta, posteriormente se utilizó una pala para extraer las raíces las cuales fueron embolsadas y etiquetadas para después ser lavadas y colocadas en solución FAA (13 ml de formol, 98 ml de ácido acético y 200 ml de alcohol al 50%) las cuales fueron llevadas al laboratorio. Del suelo se extrajo un kilogramo del cual 0.5 kilogramos corresponde al suelo de cultivo alternativo y 0.5 kilogramos al cultivo convencional. Esto con la finalidad de determinar el pH y el fósforo que son las principales características del suelo para el desarrollo de las micorrizas (Flores, 1998).

3.4 ANÁLISIS DE LABORATORIO

3.4.1 Tinción

La tinción se realizó con las raíces previamente colectadas, separando las raíces más gruesas de las más delgadas las cuales fueron procesadas de

acuerdo con la técnica de clareo y tinción de Kormanik modificada (Flores, 1998), la cual se explica a continuación:

Se colocaron los segmentos de raíz en tubos de ensayo de 24 ml de capacidad, agregándole 10 ml de hidróxido de potasio al 10% calentándolas durante 10 minutos a 10 lbs. de presión utilizando una autoclave vertical llegando a una temperatura de 91°C, una vez que se enfriaron las muestras se decantó el hidróxido de potasio enjuagándolas con agua destilada, posteriormente se le agregaron 10 ml de peróxido de hidrógeno al 10% en donde permanecieron por 15 minutos, después de este tiempo, se decantó el peróxido de hidrógeno y se enjuagaron con agua destilada, posteriormente se sumergieron en ácido clorhídrico en donde se agitaron por tres minutos, después de esto el ácido clorhídrico se decantó y se agregó la solución colorante (un gramo de azul de triptano en 1000 ml de lactofenol) calentando las muestras durante 10 min. a 10 lbs. de presión con la autoclave llegando a una temperatura de 91°C, una vez pasando los 10 min. se decantó el colorante, eliminando el exceso de colorante con lactofenol limpio.

Las raíces teñidas de cada uno de los tratamientos fueron puestas en porta objetos para su posterior observación en el microscopio compuesto y así determinar el porcentaje de micorrizas arbusculares.

3.4.2 Determinación del porcentaje de micorrización

La determinación del grado de micorrización se llevó a cabo mediante el método de evaluación de raíces micorrizadas con ayuda del microscopio compuesto se observaron las estructuras fúngicas (Flores, 1998). El cual consistió en evaluar 100 segmentos de raíz por planta muestreada, colocando 10 segmentos por portaobjetos. El total de portaobjetos empleados fue de 80 por tratamiento.

La estimación del grado de micorrización de las raíces se hizo con tres pasajes equidistantes sobre cada segmento, tomando como indicador de colonización a cada hifa, vesícula o arbusculo que se encontró en el campo óptico.

El grado de micorrización se obtuvo de acuerdo al número de campos colonizados en relación al número de campos observados y multiplicado por 100.

$$\text{Colonización (\%)} = \frac{\text{campos colonizados}}{\text{Campos totales observados}} \times 100$$

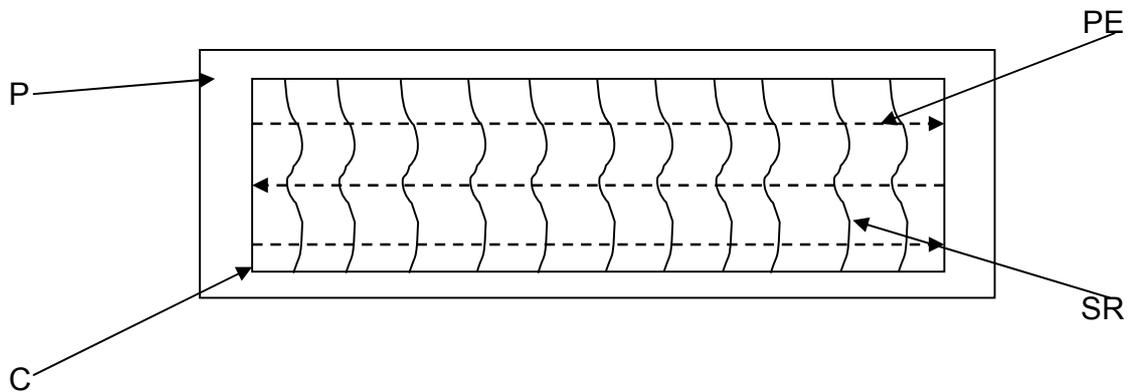


Figura 3.- Forma de montaje de raíces para la evaluación del grado de infección micorrícica. P, portaobjetos; C, cubreobjetos; PE, pasos equidistantes y SR, segmentos de raíz.

3.5 ANÁLISIS DE DATOS

Los datos que se obtuvieron durante el procesamiento de las muestras fueron sometidos a análisis de varianza con grado de significancia menor o igual a 0.05. Las variables dependientes analizadas fueron la producción obtenida de forraje en verde (FV), materia seca (MS), porcentaje de materia seca-forraje verde, porcentaje de micorrización y las variables independientes del suelo, tales como: la fertilización Alternativa con Vermicomposta y fertilización Convencional con Urea + MAP.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 MICORRIZAS VESÍCULO ARBUSCULARES EN LA RIZÓSFERA

4.1.1 Localización de estructuras en raíz

Las raíces de maíz alternativo y convencional no presentan cambios morfológicos externos aparentes. Las raíces presentaron un color cremoso típico en todas las muestras. Después del proceso de clareo y tinción, se observaron en ambos sistemas las estructuras fúngicas típicas de los hongos vesículo-arbusculares, como son: hifas cenocíticas inter e intracelulares, lo que de acuerdo a Leon, 2006. se forman unidades de colonización, y estas; por medio de divisiones celulares específicas generan arbuscúlos y vesículas. En ese sentido se observaron vesículas que abarcaban una o varias células, las formas fueron muy variadas predominando las ovoides, alargadas y cordiformes (Figura 5) y arbuscúlos que es otra de las estructuras típicas de estas micorrizas (Figura 6), las que actúan como órganos de intercambio de nutrimentos entre la célula vegetal y el huésped (Aguilera et al., 2008). Por tales motivos, se puede decir que al momento del muestreo la planta tenía mayor dependencia de la simbiosis, ya que se estaba presentando el transporte de nutrimentos.

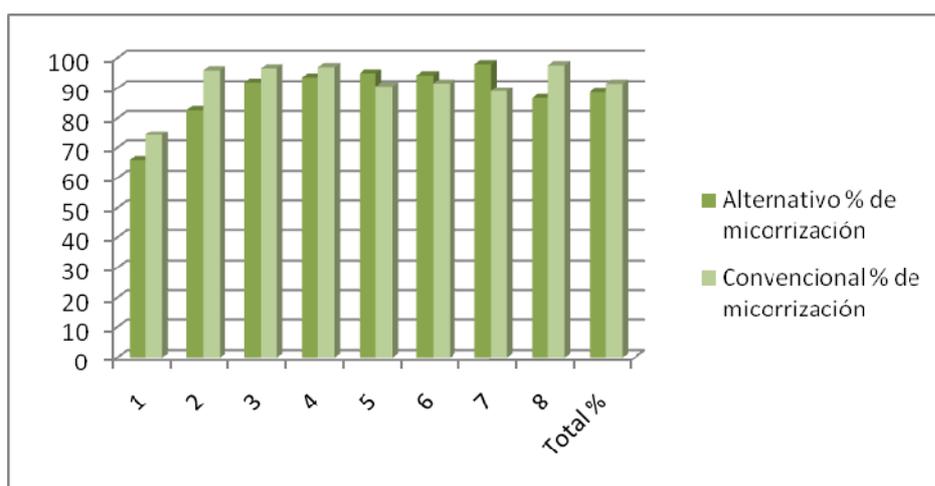
4.1.2 Porcentajes de micorrización

El porcentaje de micorrización presento una ligera variación (estadísticamente no significativa) en los dos sistemas de producción analizados. El valor de raíces micorrizadas más bajo total registrado se ubicó en el sistema alternativo con un 88.54%, mientras que en el sistema convencional mostró un valor de 91.62 %. En las muestras del sistema alternativo se ve una disminución en cuanto al porcentaje de micorrización, aunque estos valores se consideran como altos, ya que algunos autores (Serralde y Ramírez, 2004) mencionan que se encuentra una alta actividad micorrícica con valores mayores a 83% de colonización. El análisis estadístico no presentó diferencia significativa entre tratamientos, lo cual puede ser el resultado del establecimiento de poblaciones de MVA adaptadas a las condiciones propias del suelo (Cuadro 1 y Figura 4). El reflejo de los resultados obtenidos concuerdan con la aseveración de Faggioli y colaboradores (2008) sobre que el sistema convencional normalmente tienen un bajo impacto sobre las poblaciones micorrícicas.

Cuadro 1.- Grado de micorrización por muestra.

| Replicas | Alternativo % de micorrización | Convencional % de micorrización |
|----------------|--------------------------------|---------------------------------|
| 1 | 66.00 | 74.33 |
| 2 | 82.66 | 96.00 |
| 3 | 92.00 | 96.66 |
| 4 | 93.66 | 97.00 |
| 5 | 95.00 | 90.66 |
| 6 | 94.33 | 91.66 |
| 7 | 98.00 | 89.00 |
| 8 | 86.66 | 97.66 |
| Total % | 88.54 | 91.62 |

Figura 4.- Grado de micorrización por muestra.



4.2 RELACIÓN ENTRE LA MICORRIZA VESÍCULO ARBUSCULAR Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SUELO

Los resultados del Cuadro 2 permite observar que los sistemas de producción alternativo y convencional presentan diferencias entre los factores físico-químicos del suelo, que (Serralde y Ramírez, 2004) menciona que son las más importantes para la colonización de raíces por MVA, el fosforo y el pH.

Cuadro 2.- Características físico-químicas del suelo de los sistema de producción alternativo y convencional con relación al grado de micorrización.

| Parámetro | Alternativo | Convencional |
|---------------------------------|--------------------|-----------------------|
| Textura | franco arcillosa | franco arcillo limosa |
| % de micorrización | 88.54 | 91.62 |
| pH | 8.15 | 8.17 |
| Cond. Eléc. dS/cm ⁻¹ | 1.18 | 2.43 |
| Dens. Apar. g/cm ³ | 1.110 | 1.110 |
| Materia Orgánica % | 1.60 | 1.40 |
| C.I.C. mg/Kg ⁻¹ | 6.00 | 11.00 |
| Nitrógeno % | 0.080 | 0.070 |
| Fósforo mg/Kg ⁻¹ | 44.08 | 18.54 |
| Potasio mg/L ⁻¹ | 0.60 | 0.33 |
| Calcio mg/L ⁻¹ | 9.48 | 21.00 |
| Magnesio mg/L ⁻¹ | 1.15 | 2.39 |
| Sodio mg/L ⁻¹ | 1.35 | 0.90 |
| Cobre mg/Kg ⁻¹ | 3.75 | 3.72 |
| Fierro mg/Kg ⁻¹ | 15.84 | 15.06 |

| | | |
|-------------------------------|------|------|
| Zinc mg/Kg ⁻¹ | 2.82 | 2.49 |
| Manganeso mg/Kg ⁻¹ | 7.11 | 6.96 |

En lo que respecta a los factores que influyen a la colonización se observa que el pH es alcalino (8.15 en el sistema alternativo y 8.17 en el sistema convencional), presentando características similares en el alternativo y en el convencional, por lo que de acuerdo a (Alvarado et al., 2004), suelos con pH menor a 5.5 las poblaciones micorrícicas disminuyen significativamente. La acidez del suelo tiene un efecto adverso en el proceso, sea por reducir el desarrollo de las raíces, por inhibir el desarrollo de las MVA o ambas variables. También menciona que la acidez es un factor determinante para la colonización de la raíz por parte de las MVA lo que en este trabajo el valor pH obtenido es alcalino se corrobora que existe una mayor colonización en suelos con pH de este tipo.

El fósforo encontrado en el suelo presentó un valor de 44.08 mg/kg⁻¹ en el sistema alternativo y 18.54 mg/kg⁻¹ en el sistema convencional. Dichos valores difieren mucho, no obstante no hay un acuerdo entre diferentes autores (Escobar et al., 1998), ya que por un lado; se asegura que la presencia del fosforo incrementa la población fúngica, y también se afirma que se han encontrado relaciones inversas entre la concentración del fósforo en el suelo y los grados de colonización del hongo, es decir, a menor disponibilidad de

fosforo mayor colonización. El presente trabajo demostró que la mayor presencia de actividad micorrícica se llevó a cabo en donde los valores de fosforo son más bajos. Por otro lado (Serralde y Ramírez, 2004), dicen que se encuentra una alta actividad micorrícica mayor a 83% de colonización por lo que el fósforo influyó significativamente en la colonización de raíces por MVA, así pues, para ambos casos de estudio se presentan condiciones de colonización superiores a las observadas.

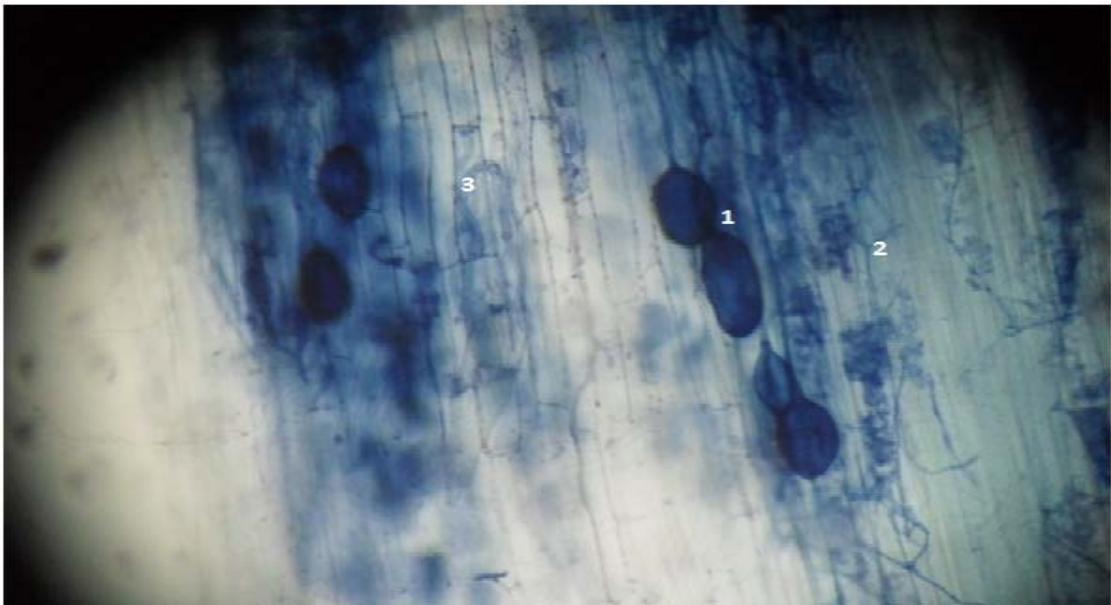


Figura 5.- Parte de la corteza de la raíz mostrando vesículas bien desarrolladas. Vesícula (1), hifas (2), y células de la corteza (3), (10x), (foto tomada por Arreola-Cruz, 2010).

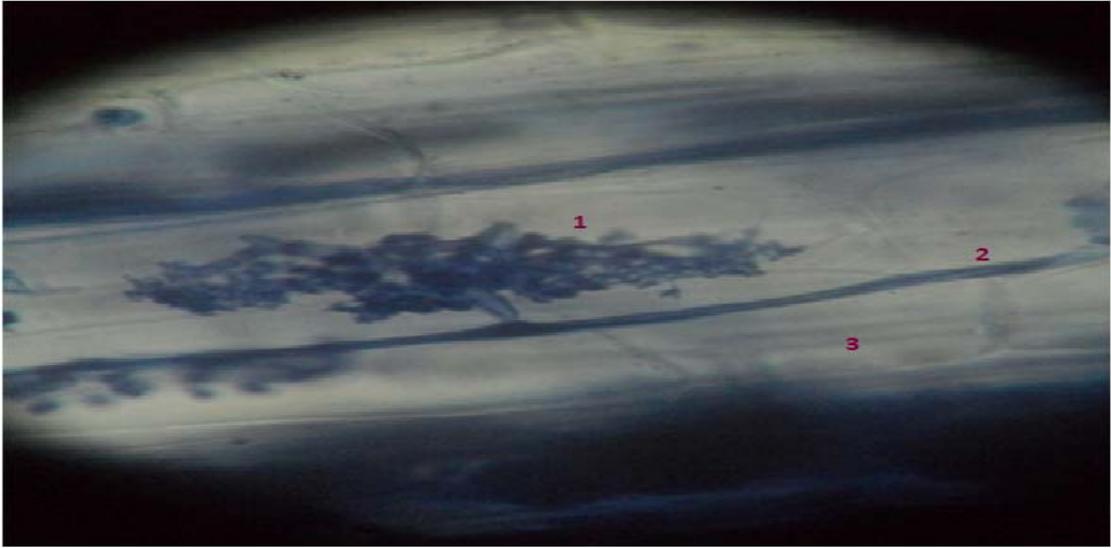


Figura 6.- Arbúsculo e hifas presentes en la raíz de plántulas micorrizadas en laboratorio. Arbúsculo (1), hifa (2) y la epidermis (3), (40x), (foto tomada por Arreola-Cruz, 2010).

4.3 RELACIÓN ENTRE LA PRODUCCIÓN Y LA MICORRIZA VESÍCULO ARBUSCULAR

De acuerdo a la producción obtenida del maíz en forraje verde (FV), materia seca (MS) y el porcentaje de esta misma en relación con el forraje verde se presenta a continuación en la Figura 6 la cual muestra estas relaciones.

Relación de la MS y el FV

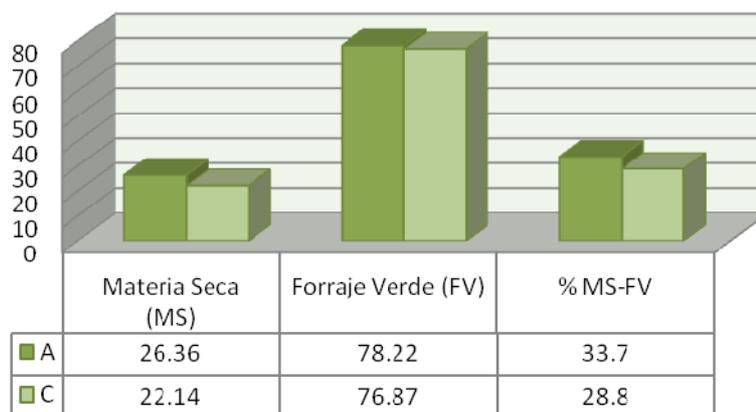


Figura 7.- Relación de la Materia Seca y el Forraje Verde en producción Alternativa (A) y Convencional (C).

A demás se obtuvieron los pesos promedios del elote, la planta y la relación elote-planta (Cuadro 3), el promedio de longitud de diámetro polar y ecuatorial del elote el cual se presenta en la Cuadro 4.

Cuadro 3.- Promedio del peso del elote y planta y su relación en cultivo Alternativo (A) y Convencional (C)

| | C | A |
|----------|--------------|--------------|
| Elote | 31.9 | 33.8 |
| Planta | 85.2 | 85.2 |
| Relación | 37.40 ton/ha | 39.63 ton/ha |

Cuadro 4.- Promedio de longitud polar-ecuatorial del elote en producción Alternativa (A) y Convencional (C)

| | C | A |
|------------|----------|----------|
| Polar | 54.53 cm | 51.23 cm |
| Ecuatorial | 18.18 cm | 17.88 cm |

De acuerdo a los datos resumidos en el Cuadro 5 y Figura 8 permiten observar que los sistemas de producción alternativo y convencional presentan altos grados de micorrización, comparten características similares como son: FV, % MS-FV, peso del elote, peso de la planta. El sistema de producción alternativo presenta la mayor producción lo que con su porcentaje de micorrización es menor significativamente que el convencional.

Cuadro 5.- Relación del porcentaje de micorrización con la producción. En donde MS es materia seca y FV representa al forraje verde y %MS-FV es el porcentaje o relación de la MS y el FV.

| Producción | Alternativo | Convencional |
|-------------------|--------------------|---------------------|
| MS | 26.36 | 22.14 |
| FV | 78.22 | 76.87 |
| % MS-FV | 33.70 | 28.80 |
| Peso del elote | 33.8 | 31.9 |
| Peso de la planta | 85.2 | 85.2 |

| | | |
|----------------------------------|-------|-------|
| Relación elote Planta | 39.63 | 37.40 |
| Longitud polar del elote | 51.23 | 54.53 |
| Longitud ecuatorial del elote | 17.88 | 18.18 |
| % de micorrización | 88.54 | 91.62 |

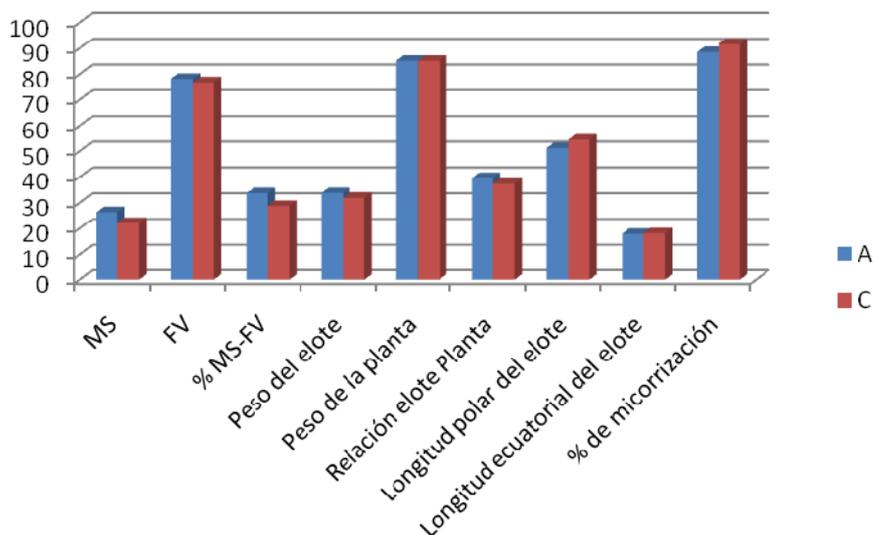


Figura 8.- Relación del porcentaje de micorrización con la producción alternativa (A) y convencional (C). En donde MS es materia seca y FV representa al forraje verde y % MS-FV es el porcentaje o relación de la MS y el FV.

Roveda y Polo (2007), mencionan que adicionalmente se observó que plantas de maíz asociadas a micorrizas arbusculares, presentaron mayores índices de crecimiento, expresados en biomasa (materia seca y forraje verde). Lo que analizando el Cuadro 5 y Figura 7 con respecto a los resultados obtenidos hubo

una mayor producción de materia seca, forraje verde en la producción alternativa, aunque ambos sistemas presentaron altos grados de micorrización.

El peso del elote en el sistema de producción alternativo es mayor así mismo se encontró una disminución de la longitud polar y ecuatorial del elote, obteniendo también resultados iguales en los dos sistemas de producción como es el caso del peso de la planta. Aguirre-Medina y Cano-García (2008), mencionan que en un estudio similar los resultados indicaron un incremento del 11% en el rendimiento del cultivo con la aplicación del hongo micorrizico. Lo que en este trabajo realizado favorece a ambos sistemas productivos aunque con diferencias significativas.

V. CONCLUSIÓN

Este estudio permite resaltar y demostrar la importancia de las micorrizas y su potencialización en las plantaciones, ya que su uso tiene varios resultados positivos, entre ellos, una menor necesidad de fertilización con químicos, potencialización de los procesos de desarrollo arbuscular y disminución de costos. Además, a mediano plazo, aumenta también la posibilidad de mejorar la producción, como en este sistema de producción alternativo se observó una mayor producción.

También se pudo ver y analizar la capacidad que tienen las MVA para desarrollarse dentro de las raíces de maíz, utilizando la técnica de clareo y tinción, la cual nos permitió ver con claridad las características que conforman a las MVA (vesículas, arbusculos e hifas), en ambos sistemas de producción, resaltando que los sistemas de producción presentaron alta población micorrícica y de acuerdo al método estadístico de parcelas apareadas no hubo una diferencia significativa en cuanto a que sistema presenta mayor población micorrícica, por lo que la hipótesis dice que el sistema de producción alternativa de maíz presenta mayor proporción micorrícica que en un sistema de producción convencional, por los resultados obtenidos esta hipótesis se rechaza.

La expresión del beneficio (efectividad) que aportan las MVA a sus hospedantes, no es sinónimo del grado de colonización de estos endófitos en el sistema radical. En otras palabras, si se tienen hongos que colonicen en mayor proporción el sistema radical, esto no implica que tengan mayor capacidad de estimular el crecimiento vegetal. Estas respuestas están determinadas en función del genotipo de la planta y de las condiciones ambientales a las que las plantas estén expuestas.

Sería importante la realización de este estudio en las mismas parcelas con la misma vocación por al menos 3 años consecutivos. Para poder determinar a largo plazo la influencia de la fertilización química en las micorrizas.

VI. LITERATURA CITADA

- AGUILERA, G. L., ALALDE, P. V., RUBÍ, A. M. & CONTRERAS, A. R. 2008. Micorrizas arbusculares. *Ciencia ergo sum*, 14, 300-3006.
- AGUIRRE-MEDINA, J. F. & CANO-GARCÍA, M. A. 2008. Uso de micorrizas como biofertilizantes en maíz. *AGROproduce*, 2-36.
- ALVARADO, A., CHAVARRÍA, M., GUERREO, R., BONICHE, J. & NAVARRO, J. R. 2004. Características edáficas y presencia de micorrizas en plantaciones de teca (*Tectona grandis L.F.*) en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 28, 89-100.
- ALLEN, F. 2007. Mycorrhizal Fungi: Highways for Water and Nutrients in Arid Soils. *Vadose Zone J.*, 6, 291-297.
- ATUL-NAYYAR, A., HAMEL, C., HANSON, K. & GERMIDA, J. 2009. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza*, 19, 239-246.
- AZCÓN, A. C. & BAREA, J. M. 1992. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. *Mycorrhiza*, 6, 163-198.
- AZCÓN, A. C. & BAREA, J. M. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6, 457–464.
- BALESTRINI, R. & LANFRANCO, L. 2006. Fungal and plant gene expression in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 16, 509-24.
- BLANCO, F. A. & SALAS, E. A. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en costa rica., 55-67.
- BLOG, B. 2009. Mycorrhizae of False Solomon's Seal. <http://botany.thismia.com/2009/11/>, 1-23.
- BONFANTE, P. 2003. Plants, Mycorrhizal Fungi and Endobacteria: a Dialog Among Cells and Genomes. . *Mycorrhiza*, 15, 215-220.
- BORIE, F. R. & MORALES, A. 2008. Hongos micorrizicos arbusculares y agregación de suelo. *R. C. suelo*, 2, 9-18.

- CAMARGO-RICALDE, S. L. 1998. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares asociada a la diversidad de plantas. *interciencia*, 15, 1-80.
- CICANA, A. C. 2001. Saber más... Ciclo del nitrógeno. *CICEANA*, 1-5.
- CONAGUA 2010. Organismos de Cuenca Cuencas Centrales del Norte (OCCCN).
- CORVETTO, C. 2000. "La cero labranza permanente y la disponibilidad de nutrientes para las plantas". 1-50.
- CUENCA, G., CÁCERES, A., OIRDOBRO, G., HASMY, Z. & URDANETA, C. 2006. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *interciencia*, 32, 23-29.
- ELIZONDO, S. J. 2006. El nitrógeno en los sistemas ganaderos de leche. *agronomía mesoamericana*, 17, 69-77.
- ESCOBAR, C. J., ZULUAGA, J. J., COLORADO, G. & PAEZ, D. 1998. Micorriza Vesícula Arbúscular (MVA) Recurso microbiológico para desarrollar una agricultura sostenible. *Corpoica*, 10, 1-6.
- FERRARIS, G. N. 2008. Inoculación con microorganismos con efecto promotor de crecimiento (PGPM) en trigo. Conocimientos actuales y experiencias realizadas en la región pampeana argentina., 1-8.
- FLORES, M. R. 1998. Caracterización de la Micorriza Vesículo-Arbuscular en Limón Citrus aurantifolia Swin., en Cinco Agroecosistemas en el Estado de Colima. *Interciencia*, 33, 1-78.
- GADKAR, V., DAVID-SCHWARTZ, R., KUNIK, T. & KAPULNIK, Y. 2001. Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization. Factors Involved in Host Recognition. *Plant Physiology*, 127, 1493-1499.
- GERDEMANN, J. L. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annual Reviews*, 10, 397-418.
- GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. C., ALARCON, A. & FERRERA-CERRATO, R. 2008. Biodiversidad funcional de los hongos micorrícicos arbusculares en zonas áridas y semiáridas. 1-34.
- GUERRERO, F. E. 1996. Micorrizas. Recursos Biológicos del suelo. 1-54.

- HARRISON, M. J. 1999. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology*, 361-389.
- HERMART, C., ILABACA, C., JEREZ, G., SANDOVAL, P. & ULLOA, A. 2009. Aspectos generales de las micorrizas.
- HERRERA-PERAZA, R. A., FERRER, R. L., OROZCO, M. O., HERNÁNDEZ, G. & VANCURA, V. 1984. Fertilización y micorrizas VA. II. Análisis del balance de macroelementos en varios experimentos. *Acta Bot. Cubana*, 20, 11-142.
- JEFFRIES, P. & BAREA, J. M. 2001. Arbuscular mycorrhiza key component of sustainable plant-soil ecosystems. 95-113.
- KUGLER, M. 1986. Micorrizas: abono con hongos. *interciencia*, 8, 5-6.
- LOVERA, M. & CUENCA, G. 2007. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la gran sabana, Venezuela. *interciencia*, 32, 108-114.
- MARTINEZ, L. B. & PUGNAIRE, F. I. 2009. Interacción entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *ecosistemas*, 2, 44-54.
- MONTAÑO, N. M., CAMARGO-RICALDE, S. L., GARCÍA-SÁNCHEZ, R. & MONROY, A. 2007. Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems). *Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV*, 17, 1-62.
- NOGALES, A. M. 2008. Estudio de la interacción entre el hongo formador de micorrizas arbusculares *Glomus intraradices* Schenck y Smith y el hongo patógeno *Armillaria mellea* (Vahl:fr) P. Kuhn en vid. *interciencia*, 24, 1-56.
- PASZKOWSKI, U. 2006. A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses 2006. *New Phytologist*, 172, 35-46.
- REYES, P. 1999. Diseño de experimentos aplicados. *Editorial Trillas*, 3ra edición, 88-90.
- ROVEDA, G. & POLO, C. 2007. Mecanismos de adaptación de maíz asociados a *Glomus spp.* en suelos con bajo fósforo disponible. *agronomía colombiana*, 349-356.

- SALAMANCA, C. R. & SILVIA, M. R. 1998. Las micorrizas como alternativa para el manejo sostenible de los agroecosistemas tropicales. *corpoica*, 15, 1-27.
- SERRALDE, A. M. & RAMÍREZ, M. M. 2004. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista corpoica*, 5, 31-40.
- SIERVERDING, E. 1991. Vesicular arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. *Plant Physiology*, 13, 220-350.
- SOUZA, V. C., SILVIA, R. A., CARDOSO, G. D. & BARRETO, A. F. 2006. Estudios sobre hongos micorrizicos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 3, 600-125.
- SUBRAMANIAN, K. S. & CHRITIANE, C. 2008. Micorriza arbuscular y manejo bajo sequía., 1-90.
- VILLEGAS, M. & CIFUENTES, J. 2004. Las micorrizas en la evolución de las plantas. *Redalyc*, 073, 30-36.

VII. APÉNDICE

Anexo 1.- Método de Student para ANAVA de parcelas apareadas con grado de significancia menor o igual a 0.05 (Reyes, 1999).

| Replica | Alternativo | Convencional | Dif X | | |
|-----------|-------------|--------------|---------|--------------|------------|
| 1 | 66,00 | 74,33 | -8,33 | tc | -1,1 |
| 2 | 82,66 | 96,00 | -13,34 | $s\bar{d}$ | 2,77799308 |
| 3 | 92,00 | 96,66 | -4,66 | S^2 | 61,7 |
| 4 | 93,66 | 97,00 | -3,34 | \bar{d} | -3,0825 |
| 5 | 95,00 | 90,66 | 4,34 | ΣX^2 | 432,2 |
| 6 | 94,33 | 91,66 | 2,67 | N | 8 |
| 7 | 98,00 | 89,00 | 9,00 | to 0,05 | 1,8946 |
| 8 | 86,66 | 97,66 | -11,00 | to 0,10 | 1,4149 |
| Sumatoria | 708,31 | 732,97 | -24,66 | | |
| Media | 88,53875 | 91,62125 | -3,0825 | | |

En donde:

$$tc = \frac{\bar{d}}{s\bar{d}}$$

$$\bar{d} = \frac{\text{suma algebraica de las diferencias}}{\text{número de pares}} = \frac{\Sigma Xi}{n}$$

$$s\bar{d} = \sqrt{\frac{S^2}{n}}$$

$$s^2 = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1}}$$

Si $\alpha = 0.05$; $n=8$

$$\bar{d} = \frac{-24.66}{8} = -3.0825$$

$$\sum x^2 = -8.33^2 + -13.34^2 + -4.66^2 + -3.34^2 + 4.34^2 + 2.67^2 + 9^2 + -11^2 - \frac{-24.28^2}{8} = 508.1802 - 76.01445 = 432.2$$

$$sd = \sqrt{\frac{61.7}{8}} = \sqrt{7.7} = 2.8$$

$$s^2 = \frac{432.2}{7} = 61.7$$

$$tc = \frac{-3.0825}{2.8} = -1.1$$

$$Tc = 11.11 \square t_{0.05} = 2.365$$

Anexo 2.- Preparación de la solución FAA.

- 13 ml de formol
- 98 ml de ácido acético
- 200 ml de alcohol al 50%

Todas estas sustancias se homogenizaron.

Anexo 3.- Preparación del lactofenol.

- 20 g de Fenol
- 20 g de Ácido Láctico
- 40 g de Glicerol
- 20 ml de Agua Destilada

El fenol se calentó y agitó con un agitador de vidrio en una plancha de calentamiento hasta deshacer el cristal (fenol). Posteriormente se agregó el ácido láctico, el glicerol y el agua destilada, agitándolo hasta quedar uniforme.

Anexo 4.- Preparación del azul de triptano

- 1 g de azul de triptano
- 1000 ml de lactofenol
- 20 g de fenol
- 20 g de ácido láctico
- 40 g de glicerol
- 20 g de agua destilada

Se calentó el fenol hasta deshacerlo, posteriormente se le agregó el lactofenol, el azul de triptano, el ácido láctico, el glicerol y el agua destilada, agitando la solución hasta quedar homogénea.

Anexo 5.- Labores culturales

- Barbecho
- Rastreo
- Nivelación
- Siembra
- Bordeo
- Fertilización

- Riego (1 aniego, 3 de auxilio)
- Cosecha

Genotipo

Se utilizó el híbrido AN 423, la cual ha demostrado alto rendimiento, calidad y tolerancia a plagas, enfermedades y algunas condiciones de sequía.

Densidad de siembra

Se realiza a una densidad de siembra de 88,888 plantas/ha.

Sistema de riego

Se emplea sistema de riego por gravedad. 1 riego de aniego. 3 riegos de auxilio.

Fertilización

La fertilización orgánica utilizada es Vermicomposta a una dosis de 8.181 ton/ha, además de UREA + MAP (fosfato monoamónico) a la dosis recomendada por el INIFAP.

Control de plagas y enfermedades:

Se utiliza productos autorizados por la norma oficial (aceites, parafinas, trampas, etc.) para la producción de productos orgánicos.

Tratamientos

Resultan 2 tratamientos a evaluar en el presente estudio y se realizaran 4 repeticiones en cada uno, obteniéndose 8 unidades experimentales.

Distribución de los tratamientos

La distribución de cada parcela serán 12 surcos a una distancia de 75 cm x 5 m de largo, dando un resultado 55 m² con 1 m de separación entre unidad experimental, dando un resultado de 1,309 m².

Las estrategias de fertilización evaluadas son las siguientes:

T1: Fertilización química de uso actual

T2: Fertilización orgánica de alta productividad (Vermicomposta)